PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-296288
(43)Date of publication of application : 26.10.2001

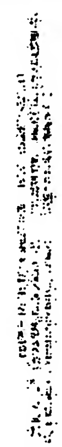
(51)Int.Cl. G01N 30/48
C07B 57/00
C07C 29/76
C07C 33/40
C07C 45/79
C07C 49/83

(21)Application number : 2000-116437
(22)Date of filing : 18.04.2000

(71)Applicant : DAICEL CHEM IND LTD
(72)Inventor : ONISHI ATSUSHI
FUTAGAWA TORU

(54) FILLER FOR OPTICAL ISOMER SEPARATION FOR LIQUID CHROMATOGRAPHY

(57)Abstract:
PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a filler and a column for liquid chromatography, giving superior optical isomer separation relative to an object compound.
SOLUTION: In this filler for optical isomer separation for liquid chromatography, made of a polysaccharide derivative carrying filler as a main component and a column in which the filler is filled, a TS coefficient defined by the following formula (I) is in the range of 0.25 to 1.0. TS coefficient=[Vc-[t(TS)-t(blank)] × FR]/[t(TS)-t(blank)] × ER (I) [In the formula, abbreviations mean Vc (cm3): a column volume, FR (ml/min.): a flow velocity, t (TS) (min.): an elution time of Tetrakis(trimethylsily) silane(=TS), and t(blank)(min.): elution time for TS in the state with the column not connected].



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]	18.04.2000
[Date of sending the examiner's decision of rejection]	18.02.2003
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]	
[Date of final disposal for application]	
[Patent number]	3635002
[Date of registration]	07.01.2005
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]	2003-04420

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]	18.03.2003
[Date of extinction of right]	

* NOTICES *

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2.**** shows the word which can not be translated.
3.In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] The bulking agent for optical-isomer separation for liquid chromatography characterized by the range of TS multiplier defined by the bottom type (I) obtained using the column for optical-isomer separation for liquid chromatography which filled up column tubing with the bulking agent concerned by the slurry filling-up method in the bulking agent for optical-isomer separation for liquid chromatography which uses a polysaccharide derivative support bulking agent as a main component being 0.25 to 1.0.

TS multiplier = [Vc-[t(TS)-t(blank)] xFR] / [t(TS)-t(blank)] xFR (I)

[-- the elution time amount of TS in the condition of not connecting the elution time amount t (blank) (min.):column of Vc(cm3):column volume FR(ml/min.):rate-of-flow t(TS) (min.):Tetrakis (trimethylsilyl) silane (= TS) is shown among a formula.]

[Claim 2] The bulking agent for optical-isomer separation according to claim 1 for liquid chromatography whose polysaccharide derivative is the ester derivative or carbamate derivative of a cellulose or an amylose.

[Claim 3] The bulking agent for optical-isomer separation according to claim 1 for liquid chromatography which is a bulking agent with which the column for analysis used for the purpose of optical-purity measurement is presented.

[Claim 4] The bulking agent for optical-isomer separation according to claim 1 for liquid chromatography which is a bulking agent with which the column for preparative isolation used for the aliquot of the single column method aiming at optically-active-substance acquisition is presented.

[Claim 5] The bulking agent for optical-isomer separation according to claim 1 for liquid chromatography which is a bulking agent with which the column for preparative isolation of continuous system liquid chromatography is presented.

[Claim 6] The column for optical-isomer separation for liquid chromatography characterized by the range of TS multiplier defined by the formula (I) according to claim 1 being 0.25 to 1.0 in the column for optical-isomer separation for liquid chromatography which uses a polysaccharide derivative support bulking agent as a main component.

[Claim 7] The column for optical-isomer separation according to claim 6 for liquid chromatography whose polysaccharide derivative is the ester derivative or carbamate derivative of a cellulose or an amylose.

[Claim 8] The column for optical-isomer separation according to claim 6 for liquid chromatography which is a column for analysis used for the purpose of optical-purity measurement.

[Claim 9] The column for optical-isomer separation according to claim 6 for liquid chromatography which is a column for preparative isolation used for the aliquot of the single column method aiming at optically-active-substance acquisition.

[Claim 10] The column for optical-isomer separation according to claim 6 for liquid chromatography which is a column for preparative isolation of continuous system liquid chromatography.

[Translation done.]

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]
[0001]
[Field of the Invention] This invention relates to the optical-isomer analytical skill which has a high separation factor and carries out optical resolution of the broad chiral compound in analysis of drugs, food, agricultural chemicals, perfume, etc. especially about the bulking agent and column which are used for separation of an optical isomer, especially separation of the optical isomer by the liquid chromatography method.
[0002]
[Description of the Prior Art] Although physical properties, such as chemical property, for example, the boiling point, the melting point, and solubility, are completely the same, many physical and optical isomers with which a difference is seen by bioactive exist in an organic compound. The living body consists of protein which consists of L-amino acid, and the difference of recognition of the organic compound by the high order dissymmetry space which these protein builds discovers him as a bioactive difference. The difference in the pharmacological activity by the ease of carrying out of association with a specific acceptor in the living body is often studied, and drug effect and the case where a remarkable difference is seen in respect of toxicity are well known for the case of drugs between optical isomers. For this reason, the Ministry of Health and Welfare has indicated Drug Approval and Licensing Procedures when the drug concerned is racemic modification, it is "desirable" to examine absorption, distribution, a metabolic turnover, and an elimination moving state about each isomer.
[0003] As stated previously, research of the physical and the technique of analyzing the optical isomer of a broad class with a simple and sufficient precision since physical properties, such as chemical property, for example, the boiling point, the melting point, and solubility, are completely the same, and it cannot analyze with the usual separation means of an optical isomer was done energetically. And the optical-resolution method by high performance liquid chromatography (HPLC), especially the optical-resolution approach by the chiral column for HPLC progressed as tools of analysis which meet these demands. With the chiral column said here, the chiral stationary phase which made the dissymmetry discernment agent itself or the dissymmetry discernment agent support on suitable support is used. For example, the ovomucoid (JP,63-307829,A) which are optical-activity polymethacrylic acid triphenylmethyl (refer to JP,57-150432,A), a cellulose or an amylose derivative (Y. Okamoto, M.Kawashimaand k.Hatada, J.Am.Chem.Soc., 106, 5337, 1984), and protein is developed.
[0004] It is known that the column for optical resolution which made the cellulose or the amylose derivative support on silica gel also in the chiral stationary phase for HPLC of these many has high dissymmetry discernment ability to a very broad compound, and examination of the optically-active-substance liquid chromatography method aliquot in the industrial scale which combined such chiral stationary phases for HPLC and a false moving-bed method is further advanced in recent years (12 Phram Tech Japan, vol. 43 (1996)).
[0005] in order to raise the basis of such backgrounds, and chromatography preparative isolation productivity, the chiral stationary phase which gives good separation of a piece is increasingly called for from the purpose compound, and the device which acquires high chromatography

effectiveness boils many things, and it is put.
[0006]
[Means for Solving the Problem] this invention persons reached this invention, as a result of inquiring wholeheartedly about the bulking agent for optical-isomer separation which made the polysaccharide derivative the dissymmetry discernment agent.
[0007] That is, this invention offers the bulking agent for optical-isomer separation for liquid chromatography characterized by for the range of TS multiplier defined by the bottom type (I) obtained using the column for optical-isomer separation for liquid chromatography which filled up column tubing with the bulking agent concerned by the slurry filling-up method to be 0.25 to 1.0, and the column which filled up the list with this in the bulking agent for optical-isomer separation for liquid chromatography which uses a polysaccharide derivative support bulking agent as a main component.
[0008]
TS multiplier = [Vc-[t(TS)-t(blank)] xFR] / [t(TS)-t(blank)] xFR (I)
[-- the elution time amount of TS in the condition of not connecting the elution time amount t (blank) (min.):column of Vc(cm3):column volume FR(ml/min.):rate-of-flow t(TS) (min.):Tetrakis (trimethylsilyl) silane (= TS) is shown among a formula.]
[0009]
[Embodiment of the Invention] Hereafter, the gestalt of operation of this invention is explained to a detail.
[0010] The polysaccharide derivative used for this invention is obtained by making a polysaccharide and the compound which has the hydroxyl group and the functional group which can react react.
[0011] Although either a synthetic polysaccharide, a natural polysaccharide and a natural product conversion polysaccharide may not be asked as a polysaccharide used for this invention, but what kind of thing may be used as long as it is optical activity, the high thing of the desirable regularity of a joint format is desirable. if it illustrates -- beta-1, 4-glucan (cellulose), and alpha-1,4-glucan (an amylose --) An amylopectin, alpha-1,6-glucan (dextran), beta-1, 6-glucan (BUSUTSURAN), Beta-1,3-glucan (for example, curdlan, sizofiran, etc.), alpha-1, 3-glucan, beta-1, 2-glucan (Crown Gall polysaccharide), beta-1, 4-galactan, beta-1, 4-mannan, alpha-1, 6-mannan, beta-1, 2-cell tongue (inulin), It is beta-2, 6-cell tongue (levan), beta-1, 4-xylan, beta-1, 3-xylan, beta-1, 4-chitosan, alpha-1, 4-N-acetyl chitosan (chitin), a pullulan, agarose, an alginic acid, etc., and the starch containing an amylose is also contained. In these, the cellulose which can obtain the polysaccharide of a high grade easily, an amylose, beta-1, 4-xylan, beta-1, 4-chitosan, a chitin, beta-1, 4-mannan, an inulin, curdlan, etc. are desirable, and especially a cellulose and an amylose are desirable.
[0012] Although the number average degree of polymerization (the pyranose contained in 1 molecule or the number of averages of a furanose ring) of these polysaccharides is ten or more preferably five or more and especially an upper limit does not have it, it is desirable that it is 1000 or less in respect of the ease of handling.
[0013] Moreover, if it is an isocyanic acid derivative, a carboxylic acid, ester, acid halide, an acid-amide compound, a halogenated compound, an aldehyde, alcohol, or the compound that has a leaving group in addition to this as a compound which has a hydroxyl group and the functional group which can react, what kind of thing may be used and such aliphatic series, an alicycle group, aromatic series, and a hetero aromatic compound can be used. Especially a desirable thing is the carbamate derivative or ester derivative of a polysaccharide which has 0.1 or more the urethane bonds or ester bonds per 1 glucose unit as a polysaccharide derivative used for this invention.
[0014] With the polysaccharide derivative support bulking agent of this invention, the polysaccharide derivative made to apply on support is used for a raw material. The chemical bond between support and the applied polysaccharide derivative, the chemical bond of the polysaccharide derivatives on support, By the radical reaction using a reaction, a radical initiator, etc. which are caused by the electromagnetic wave exposure of radiation irradiation, such as a chemical bond which used the third component, an optical exposure to the polysaccharide

derivative on support, and a gamma ray, microwave, etc. etc. The bulking agent to which firmer immobilization was given by making the further chemical bond form is also contained. Not using the polysaccharide derivative made to apply on support furthermore, the polysaccharide derivative support bulking agent produced by the approach of carrying out the chemical bond of a polysaccharide or a polysaccharide derivative, and the support, such as silica gel, directly is also contained. Moreover, the bulking agent for optical-isomer separation which uses a polysaccharide derivative support bulking agent as a main component means mixture with the bulking agent which are not objects for optical-isomer separation, such as an above-mentioned polysaccharide derivative support bulking agent, a bulking agent for optical-isomer separation of other type, or silica gel by which octadecyl surface treatment was carried out, for example.

[0015] As support used for this invention, porosity organic support or porosity inorganic support is mentioned, and it is porosity inorganic support preferably. A thing suitable as porosity organic support is a high polymer which consists of polystyrene, polyacrylamide, polyacrylate, etc., and things suitable as porosity inorganic support are a silica, an alumina, a magnesia, glass, a kaolin, titanium oxide, a silicate, hydroxyapatite, etc. Especially desirable support is silica gel, 0.1 micrometers - 10nm of particle size of silica gel is 1 micrometer - 300 micrometers preferably, and 10A - 100 micrometers of average apertures are 50A - 50000A preferably. In order to eliminate the effect of a residual silanol, as for a front face, it is desirable to perform surface treatment, but it is satisfactory even if surface treatment is not performed at all.

[0016] The elution time amount of the tetrakis (trimethylsilyl) silane (it is called Following TS) in the condition of not connecting with the condition of having connected the column to liquid chromatograph equipment in TS multiplier calculation in this invention is measured, and TS multiplier defined by the above-mentioned formula (I) is computed using the acquired elution time amount. Although the analysis apparatus used in the case of this measurement has RI detector, a UV detector, etc. which can check the elution of TS as a detector which is HPLC equipment and is used, it is desirable to detect on the wavelength of 210nm using a UV detector especially.

[0017] As analysis conditions, it carries out on normal phase conditions, i.e., the mobile phase conditions which use a hydrophobic solvent as a main component. Specifically, it is the mobile phase of the presentation ratio of n-hexane / 2-propanol =9 / 1 (v/v). Moreover, analysis temperature is a room temperature (25 degrees C), and, as for the rate of flow, 1/1, especially 4.15 of the quadrant of column volume Vc (cm3) - 9 minutes, i.e., [Vcx(1/4.15)] ml/min., are desirable. It is still more desirable the amount of volume of 1/300 - 1/600 of column volume and for the amount of placing of TS to drive in especially TS solution made to dissolve TS in a mobile phase by 5.0mg [/ml] concentration the amount of volume of 1/415, i.e., [Vcx(1/415)] ml.

[0018] In this invention, if it is required for the range of TS multiplier computed as mentioned above to be 0.25 to 1.0 and it separates from this range, good separability ability cannot be obtained.

[0019] Although it is common to use for the optical-isomer separation by a chromatography method and membrane separation, such as a gas chromatography, liquid chromatography, supercritical chromatography, thin-layer chromatography, and capillary electrophoresis, as for the bulking agent of this invention, applying to especially a liquid chromatography method is desirable.

[0020] Furthermore, the bulking agent of this invention is preferably used for the column for analysis of the liquid chromatography used mainly for the purpose of optical-purity measurement, the column for preparative isolation of the liquid chromatography of the single column method aiming at several mg - several kg optically-active-substance acquisition, the column for preparative isolation of the continuous system liquid chromatography represented by the simulated moving bed method, etc.

[0021]

[Example] Hereafter, although an example explains this invention to a detail, this invention is not limited to these examples.

[0022] Example 1TS multiplier = amylose of 0.527 Aminopropyl silanizing (APS processing) was performed by making the production approach ** silica gel surface treatment porosity silica gel

(particle size of 20 micrometers, 1300A of average pore size) of the bulking agent for tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support optical-isomer separation react with 3-aminopropyl triethoxysilane by the well-known approach. The silica gel with which carbamoyl surface treatment was performed was obtained at reacting the obtained APS processing silica gel with 3 and 5-dimethylphenyl isocyanate.

[0023] ** amylose bottom of synthetic nitrogen-gas-atmosphere mind of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate), and amylose 10.0g -- desiccation pyridine 360ml -- inside and under 3 and 5-dimethylphenyl isocyanate 82.2g (3Eq) and pyridine reflux temperature, it poured into methanol 6.0L, after performing heating stirring for 60 hours. The depositing solid-state was separated with the glass filter, and performed the vacuum drying (80 degrees C, 5 hours) after several washing with the methanol. Consequently, 35.3g (95%) of white solid-states which were yellowish a little was obtained.

[0024] ** Amylose Amylose obtained by the support above-mentioned ** to the silica gel of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) 10g was dissolved in 100ml of ethyl acetate, and the moiety of this polymer dope was applied to homogeneity at silica gel 40g of **. It is the target amylose by performing reduced pressure drying for 20 minutes on condition that 50 degrees C and 120Torr, remaining ethyl acetate further, and performing reduced pressure drying for 20 minutes for a moiety on the same conditions (50 degrees C, 120Torr) as the point after homogeneity spreading similarly after spreading. The tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support mold bulking agent was obtained.

[0025] ** Amylose produced by packed column production ** for HPLC from a production bulking agent Using the separating medium which supported tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) on silica gel as a bulking agent, the column made from stainless steel with a die length [of 25cm] and a bore of 0.46cm was filled up with the slurry filling-up method, and the separation column for optical isomers was produced.

[0026] Example 2TS multiplier = amylose of 0.926 Carbamoyl surface treatment was performed to porosity silica gel (particle size of 20 micrometers, 1300A of average pore size) as well as ** of the production approach ** silica gel surface treatment example 1 of the bulking agent for tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support optical-isomer separation.

[0027] ** Amylose By the same technique as ** of the synthetic example 1 of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate), it is an amylose. Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) was produced.

[0028] ** Amylose Amylose obtained by the support above-mentioned ** to the silica gel of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) 52.5g was dissolved in 489ml of ethyl acetate, and 1/4 amount of this polymer dope was applied to homogeneity at silica gel 97.5g of **. Reduced pressure drying for 15 minutes was performed for ethyl acetate on condition that 50 degrees C and 120Torr after spreading, and reduced pressure drying for 15 minutes was similarly performed for 1/4 amount to the pan on the same conditions (50 degrees C, 120Torr) as the point after homogeneity spreading. It is the target amylose by carrying out reduced pressure drying of the 1/4 amount for 45 minutes on these conditions (50 degrees C, 120Torr) after homogeneity spreading succeedingly, remaining at the end and carrying out reduced pressure drying of the 1/4 amount for 45 minutes on these conditions (50 degrees C, 120Torr) after homogeneity spreading. The tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support mold bulking agent was obtained.

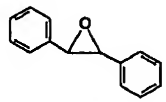
[0029] ** Amylose produced by packed column production ** for HPLC from a production bulking agent Using the separating medium which supported tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) on silica gel as a bulking agent, the column made from stainless steel with a die length [of 25cm] and a bore of 0.46cm was filled up with the slurry filling-up method, and the separation column for optical isomers was produced.

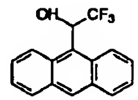
[0030] Example 3TS multiplier = amylose of 0.286 Carbamoyl surface treatment was performed to porosity silica gel (particle size of 20 micrometers, 1300A of average pore size) as well as ** of the production approach ** silica gel surface treatment example 1 of the bulking agent for tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support optical-isomer separation.

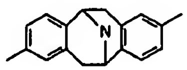
[0031] ** Amylose By the same technique as ** of the synthetic example 1 of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate), it is an amylose. Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) was produced.

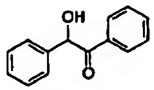
[0032] ** Amylose Amylose obtained by the support above-mentioned ** to the silica gel of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) 1.25g was dissolved in 12.5ml of ethyl acetate, and the whole quantity of this polymer dope was applied to homogeneity at silica gel 11.25g of **. It is the target amylose by performing reduced pressure drying for 15 minutes for ethyl acetate on condition that 50 degrees C and 120Torr after spreading. The tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support mold bulking agent was obtained.
[0033] ** Amylose produced by packed column production ** for HPLC from a production bulking agent Using the separating medium which supported tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) on silica gel as a bulking agent, the column made from stainless steel with a die length [of 25cm] and a bore of 0.46cm was filled up with the slurry filling-up method, and the separation column for optical isomers was produced.
[0034] Example 4TS multiplier = amylose of 0.698 Carbamoyl surface treatment was performed to porosity silica gel (particle size of 20 micrometers, 1300A of average pore size) as well as ** of the production approach ** silica gel surface treatment example 1 of the bulking agent for tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support optical-isomer separation.
[0035] ** Amylose By the same technique as ** of the synthetic example 1 of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate), it is an amylose. Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) was produced.
[0036] ** Amylose Amylose obtained by the support above-mentioned ** to the silica gel of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) 50.25g was dissolved in 437.2ml of ethyl acetate, and 1/3 amount of this polymer dope was applied to homogeneity at silica gel 117.25g of **. Reduced pressure drying for 15 minutes was performed for ethyl acetate on condition that 50 degrees C and 120Torr after spreading. It is the target amylose by carrying out 1/3 amount of a polymer dope after spreading, carrying out reduced pressure drying of the ethyl acetate for 15 minutes on these conditions similarly succeedingly, remaining, performing the homogeneity spreading back for 1/3 amount, and performing reduced pressure distilling off for ethyl acetate by the reduced pressure drying for 25 minutes. The tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support mold bulking agent was obtained.
[0037] ** Amylose produced by packed column production ** for HPLC from a production bulking agent Using the separating medium which supported tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) on silica gel as a bulking agent, the column made from stainless steel with a die length [of 25cm] and a bore of 0.46cm was filled up with the slurry filling-up method, and the separation column for optical isomers was produced.
[0038] Example 5TS multiplier = amylose of 0.379 Carbamoyl surface treatment was performed to porosity silica gel (particle size of 20 micrometers, 1300A of average pore size) as well as ** of the production approach ** silica gel surface treatment example 1 of the bulking agent for tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support optical-isomer separation.
[0039] ** Amylose By the same technique as ** of the synthetic example 1 of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate), it is an amylose. Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) was produced.
[0040] ** Amylose Amylose obtained by the support above-mentioned ** to the silica gel of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) 27.0g was dissolved in 270ml of ethyl acetate, and 1/2 amount of this polymer dope was applied to homogeneity at silica gel 153.0g of **. Reduced pressure drying for 15 minutes was performed for ethyl acetate on condition that 50 degrees C and 120Torr after spreading. They are the reduced pressure drying for 15 minutes, and the target amylose at these conditions after spreading and about ethyl acetate similarly in 1/2 amount of a polymer dope succeedingly. The tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support mold bulking agent was obtained.
[0041] ** Amylose produced by packed column production ** for HPLC from a production bulking agent Using the separating medium which supported tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) on silica gel as a bulking agent, the column made from stainless steel with a die length [of 25cm] and a bore of 0.46cm was filled up with the slurry filling-up method, and the separation column for optical isomers was produced.
[0042] Example of comparison 1TS multiplier = 1.050 amyloses Carbamoyl surface treatment was performed to porosity silica gel (particle size of 20 micrometers, 1300A of average pore size) as well as ** of the production approach ** silica gel surface treatment example 1 of the bulking

agent for tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support optical-isomer separation.
[0043] ** Amylose By the same technique as ** of the synthetic example 1 of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate), it is an amylose. Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) was produced.
[0044] ** Amylose Amylose obtained by the support above-mentioned ** to the silica gel of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) 2.5g was dissolved in 18.75ml of ethyl acetate, and 1/4 amount of this polymer dope was applied to homogeneity at silica gel 3.75g of **. Reduced pressure drying for 15 minutes was performed for ethyl acetate on condition that 50 degrees C and 120Torr after spreading. Succeedingly, the spreading back was performed for 1/4 amount of a polymer dope, and reduced pressure drying for 30 minutes was similarly performed for ethyl acetate on these conditions. Furthermore, it is the target amylose by performing the spreading back for 1/4 amount of a polymer dope, performing reduced pressure drying for 30 minutes for ethyl acetate on these conditions similarly, remaining, performing the spreading back for the polymer dope of 1/4 amount, and performing reduced pressure drying for 60 minutes for ethyl acetate on these conditions similarly. The tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support mold bulking agent was obtained.
[0045] ** Amylose produced by packed column production ** for HPLC from a production bulking agent Using the separating medium which supported tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) on silica gel as a bulking agent, the column made from stainless steel with a die length [of 25cm] and a bore of 0.46cm was filled up with the slurry filling-up method, and the separation column for optical isomers was produced.
[0046] Example of comparison 2TS multiplier = amylose of 0.240 Carbamoyl surface treatment was performed to porosity silica gel (particle size of 20 micrometers, 1300A of average pore size) as well as ** of the production approach ** silica gel surface treatment example 1 of the bulking agent for tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support optical-isomer separation.
[0047] ** Amylose By the same technique as ** of the synthetic example 1 of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate), it is an amylose. Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) was produced.
[0048] ** Amylose Amylose obtained by the support above-mentioned ** to the silica gel of tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) Tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) 125.0g was dissolved in 1250ml of ethyl acetate, and the whole quantity of this polymer dope was applied to homogeneity at the 2375.0 g silica gel of **. The target amylose tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) support mold bulking agent was obtained after spreading by performing reduced pressure drying for 10.5 minutes for ethyl acetate on condition that 50 degrees C and 120Torr.
[0049] ** Amylose produced by packed column production ** for HPLC from a production bulking agent Using the separating medium which supported tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) on silica gel as a bulking agent, the column made from stainless steel with a die length [of 25cm] and a bore of 0.46cm was filled up with the slurry filling-up method, and the separation column for optical isomers was produced.
[0050] Amylose produced in the application examples 1-5 and the examples 1-2 of a comparison Using the column for optical-isomer separation for HPLC filled up with the bulking agent which supported tris (3, 5-dimethylphenyl carbamate) on silica gel, the elution time amount [t (TS) (min.)] of TS was measured by the liquid chromatography method of the following conditions, and TS multiplier was computed by the following formula. A result is shown in Table 1.
<Analysis condition of liquid chromatography> mobile phase: n-hexane / 2-propanol =9 / 1 (v/v) rate-of-flow: -- 1.0 ml/min. temperature: -- 25-degree-C detection: -- 210nm placing TS concentration: -- 5.0mg (mobile phase)/ml
The amount of TS placing : 10microL<TS multiplier formula >Vc:0.23x0.23x3.14x25=4.15cm3, FR:1.0ml/min., t(blank): 0.16min.TS multiplier = The column for optical-isomer separation for HPLC produced in examples 1-5 and the examples 1-2 of a comparison to [4.15-[t(TS)-0.16] x1.0] / [t(TS)-0.16] x1.0 pan is used. Optical resolution of the compounds 1-4 expressed with the following formula which is racemic modification was performed, and the degree-of-separation Rs value which is the index which shows extent of separation of each optically active substance was computed by the following type. The result is also shown in Table 1.
[0051]
[Formula 1]


化合物1


化合物2


化合物3


化合物4

[0052] Rs=2(t1-t2)/(W1+W2)
(Here, t1 and t2 show W1, and the elution time amount of each optical isomer and W2 show the peak width of an optical-isomer peak.)
[0053]
[Table 1]

HPLC用カラム		t(TS) (min)	TS係数	分離度 (Rs)			
				化合物1	化合物2	化合物3	化合物4
実施例	1	2.67	0.627	4.81	1.55	1.98	1.77
	2	2.16	0.926	3.40	1.05	1.44	1.12
	3	3.14	0.286	3.56	1.03	1.21	1.50
	4	2.42	0.696	3.95	1.21	1.63	1.34
	5	2.94	0.379	5.49	1.38	1.90	1.91
比較例	1	2.03	1.050	2.17	0.63	1.01	0.68
	2	3.25	0.240	2.28	0.59	0.65	1.21

[0054] Moreover, the relation between TS multiplier of a bulking agent and Rs value of a compound 1 was shown in drawing 1 , and the relation between TS multiplier of a bulking agent and Rs value of compounds 2-4 was shown in drawing 2 .
[0055] From the above result, the bulking agent which has TS multiplier in the range of 0.25 to 1.0 is understood that the separability ability of an optical isomer is good.

[Translation done.]

DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]
[Drawing 1] It is drawing showing the relation between TS multiplier of a bulking agent, and Rs value of a compound 1.
[Drawing 2] It is drawing showing the relation between TS multiplier of a bulking agent, and Rs value of compounds 2-4.

[Translation done.]

(19)日本国特許庁（ＪＰ）　(12) **公開特許公報**（A）　(11)特許出願公開番号
特開2001－296288
（P2001－296288A）
(43)公開日　平成13年10月26日(2001.10.26)

(51)Int.Cl.⁷	識別記号	ＦＩ	テーマコード(参考)
Ｇ０１Ｎ 30/48		Ｇ０１Ｎ 30/48	Ｗ　4Ｈ００６
			Ｎ
Ｃ０７Ｂ 57/00	３４０	Ｃ０７Ｂ 57/00	３４０
	３４３		３４３
	３５０		３５０

審査請求 有　請求項の数10 ＯＬ（全 8 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2000－116437(P2000－116437)
(22)出願日　平成12年4月18日(2000.4.18)

(71)出願人　000002901
ダイセル化学工業株式会社
大阪府堺市鉄砲町1番地
(72)発明者　大西　敦
茨城県つくば市千現1丁目14－14
(72)発明者　二川　亨
兵庫県姫路市飾磨区今在家4丁目85－1－301
(74)代理人　100063897
弁理士　古谷　馨　（外3名）

Ｆターム(参考)　4H006 AA02 AC83 AD17 FC54 FE11 FE71 FE74

(54)【発明の名称】　液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤

(57)【要約】
【課題】　目的化合物に対して、良好な光学異性体分離を与える液体クロマトグラフィー用充填剤及びカラムの提供。
【解決手段】　多糖誘導体担持充填剤を主たる構成要素とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤並びにこれを充填したカラムにおいて、下式（Ｉ）で定義されるＴＳ係数が０．２５から１．０の範囲である。

ＴＳ係数＝［Vc－[t(TS)－t(blank)]×FR］／[t(TS)－t(blank)]×FR　（Ｉ）

［式中、Vc（cm³）：カラム体積、FR（ml／min.）：流速、t(TS)(min.)：Tetrakis(trimethylsilyl)silane(＝TS)の溶出時間、t(blank)(min.)：カラムを接続しない状態でのTSの溶出時間を示す。］

【特許請求の範囲】
【請求項１】　多糖誘導体担持充填剤を主たる構成要素とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤において、当該充填剤をスラリー充填法によりカラム

ＴＳ係数＝［Vc－[t(TS)－t(blank)]×FR］／[t(TS)－t(blank)]×FR　（Ｉ）

［式中、Vc（cm³）：カラム体積
FR（ml／min.）：流速
t(TS)(min.)：Tetrakis(trimethylsilyl)silane(＝TS)の溶出時間
t(blank)(min.)：カラムを接続しない状態でのTSの溶出時間を示す。］

管に充填した液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラムを用いて得られる下式（Ｉ）で定義されるＴＳ係数が０．２５から１．０の範囲であることを特徴とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤。

【請求項２】　多糖誘導体がセルロース又はアミロースのエステル誘導体あるいはカルバメート誘導体である請求項１記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤。
【請求項３】　光学純度測定を目的に使用される分析用カラムに供される充填剤である請求項１記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤。
【請求項４】　光学活性体取得を目的とする単カラム方式の分取に使用される分取用カラムに供される充填剤である請求項１記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤。
【請求項５】　連続式液体クロマトグラフィーの分取用カラムに供される充填剤である請求項１記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤。
【請求項６】　多糖誘導体担持充填剤を主たる構成要素とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラムにおいて、請求項１記載の式（Ｉ）で定義されるＴＳ係数が０．２５から１．０の範囲であることを特徴とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラム。
【請求項７】　多糖誘導体がセルロース又はアミロースのエステル誘導体あるいはカルバメート誘導体である請求項６記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラム。
【請求項８】　光学純度測定を目的に使用される分析用カラムである請求項６記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラム。
【請求項９】　光学活性体取得を目的とする単カラム方式の分取に使用される分取用カラムである請求項６記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラム。
【請求項１０】　連続式液体クロマトグラフィーの分取用カラムである請求項６記載の液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラム。

【発明の詳細な説明】
【０００１】
【発明の属する技術分野】本発明は光学異性体の分離、特に液体クロマトグラフィー法による光学異性体の分離に用いられる充填剤及びカラムに関するものであり、特に医薬品、食品、農薬、香料等の分析において、幅広いキラル化合物を、高い分離係数をもって光学分割する光学異性体分析技術に関するものである。

【０００２】
【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】有機化合物には物理的、化学的性質、例えば沸点、融点、溶解度といった物性が全く同一であるが、生理活性に差がみられる光学異性体が多く存在する。生体はＬ－アミノ酸からなるタンパク質で構成されており、これらタンパク質が構築する高次の不斉空間による有機化合物の認識の差が生理活性の差として発現する。医薬品の場合では生体内の特定の受容体との結合のし易さによる薬理活性の違いがよく研究されており、光学異性体の間で薬効、毒性の点で顕著な差が見られるケースが良く知られている。このため厚生省は医薬品製造指針においては「当該薬物がラセミ体である場合には、それぞれの異性体について、吸収、分布、代謝、排泄動態を検討しておくことが望ましい」と記載している。

【０００３】先に述べたように光学異性体の物理的、化学的性質、例えば沸点、融点、溶解度といった物性は全く同一であるために、通常の分離手段では分析が行えないため、幅広い種類の光学異性体を簡便に、かつ精度良く分析する技術の研究が精力的に行われた。そしてこれら要求に応える分析手法として高性能液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）による光学分割法、特にＨＰＬＣ用キラルカラムによる光学分割方法が進歩した。ここで言うキラルカラムとは不斉識別剤そのもの、あるいは不斉識別剤を適当な担体上に担持させたキラル固定相が使用されている。例えば光学活性ポリメタクリル酸トリフェニルメチル（特開昭５７－１５０４３２号公報参照）、セルロースあるいはアミロース誘導体（Y Okamoto, M Kawashima and K Hatada, J Am Chem Soc , 106, 5337, 1984）、タンパクであるオボムコイド（特開昭６３－３０７８２９号公報）等が開発されている。

【０００４】これら多くのＨＰＬＣ用キラル固定相の中でも、セルロースあるいはアミロース誘導体をシリカゲル上に担持させた光学分割用カラムは、極めて幅広い化合物に対し、高い不斉識別能を有することが知られており、さらに近年では、こういったＨＰＬＣ用キラル固定相と疑似移動床法を組み合わせた工業規模での光学活性体液体クロマト法分取の検討が進められている（Pharm Tech Japan, vol 12,43(1996)）。

【０００５】こういった背景のもと、クロマト分取生産性を向上させるために、目的化合物に対して、切れの良い分離を与えるキラル固定相がますます求められており、高いクロマト効率を得る工夫が種々になされている。

【0006】
【課題を解決するための手段】本発明者らは、多糖誘導体を不斉識別剤とした光学異性体分離用充填剤に関して鋭意研究を行った結果、本発明に達した。
【0007】即ち本発明は、多糖誘導体担持充填剤を主たる構成要素とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤において、当該充填剤をスラリー充填法によりカラム管に充填した液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用カラムを用いて得られる下式（1）で定義されるTS係数が0．25から1．0の範囲であることを特徴とする液体クロマトグラフィー用光学異性体分離用充填剤、並びにこれを充填したカラムを提供するものである。
【0008】

$$\text{TS係数} = [Vc - [t(TS) - t(blank)] \times FR] / [t(TS) - t(blank)] \times FR \quad (1)$$

［式中、Vc（cm^3）：カラム体積
FR（ml／min.）：流速
t(TS)(min.)：Tetrakis(trimethylsilyl)silane(=TS)の溶出時間
t(blank)(min.)：カラムを接続しない状態でのTSの溶出時間を示す。］
【0009】
【発明の実施の形態】以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。
【0010】本発明に用いられる多糖誘導体は、多糖と、その水酸基と反応しうる官能基を有する化合物とを反応させることにより得られる。
【0011】本発明に用いられる多糖としては合成多糖、天然多糖及び天然物変成多糖のいずれかを問わず、光学活性であればいかなるものでもよいが、好ましくは結合様式の規則性の高いものが望ましい。例示すればβ－1，4－グルカン（セルロース）、α－1，4－グルカン（アミロース、アミロペクチン）、α－1，6－グルカン（デキストラン）、β－1，6－グルカン（ブスツラン）、β－1，3－グルカン（例えばカードラン、シゾフィラン等）、α－1，3－グルカン、β－1，2－グルカン（Crown Gall多糖）、β－1，4－ガラクタン、β－1，4－マンナン、α－1，6－マンナン、β－1，2－フラクタン（イヌリン）、β－2，6－フラクタン（レバン）、β－1，4－キシラン、β－1，3－キシラン、β－1，4－キトサン、α－1，4－N－アセチルキトサン（キチン）、プルラン、アガロース、アルギン酸等であり、アミロースを含有する澱粉も含まれる。これらの中では、高純度の多糖を容易に入手できるセルロース、アミロース、β－1，4－キシラン、β－1，4－キトサン、キチン、β－1，4－マンナン、イヌリン、カードラン等が好ましく、特にセルロース、アミロースが好ましい。
【0012】これら多糖の数平均重合度（1分子中に含まれるピラノースあるいはフラノース環の平均数）は5以上、好ましくは10以上であり、特に上限はないが、1000以下であることが取り扱いの容易さの点で望ましい。
【0013】また水酸基と反応しうる官能基を有する化合物としてはイソシアン酸誘導体、カルボン酸、エステル、酸ハロゲン化物、酸アミド化合物、ハロゲン化合物、アルデヒド、アルコールあるいはその他脱離基を有する化合物であればいかなるものでもよく、これらの脂肪族、脂環族、芳香族、ヘテロ芳香族化合物を用いることができる。本発明に用いられる多糖誘導体として特に好ましいのは、1グルコースユニットあたり0．1個以上のウレタン結合又はエステル結合を有する多糖のカルバメート誘導体あるいはエステル誘導体である。
【0014】本発明の多糖誘導体担持充填剤とは、担体上に塗布させた多糖誘導体を原料に用い、担体と塗布された多糖誘導体間の化学結合、担体上の多糖誘導体同士の化学結合、第三成分を使用した化学結合、担体上の多糖誘導体への光照射、γ線などの放射線照射、マイクロ波などの電磁波照射などによって引き起こされる反応、ラジカル開始剤などを用いるラジカル反応などによって、さらなる化学結合を形成せしめることで、より強固な固定化を施された充填剤も含まれる。さらに担体上に塗布させた多糖誘導体を用いず、直接に多糖、もしくは多糖誘導体とシリカゲルなどの担体を化学結合させる方法で作製される多糖誘導体担持充填剤も含まれる。また、多糖誘導体担持充填剤を主たる構成要素とする光学異性体分離用充填剤とは、上述の多糖誘導体担持充填剤と他種の光学異性体分離用充填剤もしくは例えばオクタデシル表面処理されたシリカゲルなどの光学異性体分離用でない充填剤との混合物を言う。
【0015】本発明に用いられる担体としては、多孔質有機担体又は多孔質無機担体が挙げられ、好ましくは多孔質無機担体である。多孔質有機担体として適当なものは、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート等からなる高分子物質であり、多孔質無機担体として適当なものは、シリカ、アルミナ、マグネシア、ガラス、カオリン、酸化チタン、ケイ酸塩、ヒドロキシアパタイトなどである。特に好ましい担体はシリカゲルであり、シリカゲルの粒径は0．1μm～10mm、好ましくは1μm～300μmであり、平均孔径は10Å～100μm、好ましくは50Å～50000Åである。表面は残存シラノールの影響を排除するために表面処理が施されていることが望ましいが、全く表面処理が施されていなくても問題ない。
【0016】本発明においてTS係数算出にあたっては、カラムを液体クロマトグラフ装置に接続した状態と接続しない状態におけるテトラキス（トリメチルシリル）シラン（以下TSという）の溶出時間を測定し、得られた溶出時間を用い、上記式（1）で定義されるTS係数を算出する。この測定の際に用いられる分析装置はHPLC装置であり、使用される検出器としてはTSの溶出が確認できるRI検出器、UV検出器などがあるが、特にはUV検出器を用い波長210nmで検出することが好ましい。
【0017】分析条件としては順相条件、すなわち疎水性溶剤を主たる構成要素とする移動相条件にて実施する。具体的にはn－ヘキサン／2－プロパノール＝9／1（v／v）の組成比の移動相である。また分析温度は室温（25℃）であり、流速はカラム体積Vc（cm^3）の4分の1～9分の1、特に4.15分の1、すなわち［Vc×（1／4.15）］ml／min.が好ましい。さらにTSの打込み量は、移動相にTSを5.0mg／ml濃度で溶解させたTS溶液をカラム体積の300分の1～600分の1の体積量、特に415分の1の体積量、すなわち［Vc×（1／415）］ml打込むことが望ましい。
【0018】本発明においては、上記のようにして算出されたTS係数が0．25から1．0の範囲であることが必要であり、この範囲をはずれると良好な分離性能を得ることができない。
【0019】本発明の充填剤は、ガスクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィー、超臨界クロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、キャピラリー電気泳動などのクロマトグラフィー法及び膜分離による光学異性体分離に用いるのが一般的であるが、特に液体クロマトグラフィー法に応用するのが好ましい。
【0020】更に本発明の充填剤は、主として光学純度測定を目的に使用される液体クロマトグラフィーの分析用カラム、数mg～数kgの光学活性体取得を目的とする単カラム方式の液体クロマトグラフィーの分取用カラム、擬似移動床方式に代表される連続式液体クロマトグラフィーの分取用カラム等に好ましく使用される。
【0021】
【実施例】以下、本発明を実施例によって詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。
【0022】実施例1
TS係数＝0．527のアミロース トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持光学異性体分離用充填剤の作製方法
① シリカゲル表面処理
多孔質シリカゲル（粒径20μm、平均細孔径1300Å）を公知の方法により、3－アミノプロピルトリエトキシシランと反応させることによりアミノプロピルシラン処理（APS処理）を施した。得られたAPS処理シリカゲルを3，5－ジメチルフェニルイソシアネートと反応することで、カルバモイル表面処理が施されたシリカゲルを得た。
【0023】② アミロース トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）の合成窒素雰囲気下、アミロース10．0gを乾燥ピリジン360ml中、3，5－ジメチルフェニルイソシアネート82．2g（3当量）とピリジン還流温度下、60時間加熱撹拌を行った後、メタノール6．0Lに注ぎ込んだ。析出した固体はグラスフィルターで濾取し、メタノールで数回の洗浄後、真空乾燥（80℃、5時間）を行った。その結果、若干黄色がかった白色固体35．3g（95％）が得られた。
【0024】③ アミロース トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）のシリカゲルへの担持
上記②で得たアミロース トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）10gを酢酸エチル100mlに溶解させ、このポリマードープの半量を均一に①のシリカゲル40gに塗布した。塗布後、酢酸エチルを50℃、120Torrの条件で20分間の減圧乾燥を行い、さらに残り半量を同様に均一塗布後、先と同じ条件（50℃、120Torr）で20分間の減圧乾燥を行うことで、目的のアミロース トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持型充填剤を得た。
【0025】④ 作製充填剤からのHPLC用充填カラム作製
③で作製したアミロース トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ25cm、内径0．46cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。
【0026】実施例2
TS係数＝0．926のアミロース トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持光学異性体分離用充填剤の作製方法
① シリカゲル表面処理
実施例1の①と同じく、多孔質シリカゲル（粒径20μm、平均細孔径1300Å）にカルバモイル表面処理を施した。
【0027】② アミロース トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）の合成
実施例1の②と同様の手法により、アミロース トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）を作製した。
【0028】③ アミロース トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）のシリカゲルへの担持
上記②で得たアミロース トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）52．5gを酢酸エチル489mlに溶解させ、このポリマードープの1／4量を均一に①のシリカゲル97．5gに塗布した。塗布後、酢酸エチルを50℃、120Torrの条件で15分間の減圧乾燥を行い、さらに1／4量を同様に均一塗布後、先と同じ条件（50℃、120Torr）で15分間の減圧乾燥を行った。引続き1／4量を均一塗布後、同条件（50℃、120Torr）で45分間の減圧乾燥し、最後に残り1／4量を均一塗布後、同条件（50℃、120Torr）で45

分間の減圧乾燥することで、目的のアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持型充填剤を得た。

【0029】④　作製充填剤からのＨＰＬＣ用充填カラム作製

③で作製したアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ２５cm、内径０．４６cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

【0030】実施例3

ＴＳ係数＝０．２８６のアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持光学異性体分離用充填剤の作製方法

①　シリカゲル表面処理

実施例１の①と同じく、多孔質シリカゲル（粒径２０μm、平均細孔径１３００Å）にカルバモイル表面処理を施した。

【0031】②　アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）の合成

実施例１の②と同様の手法により、アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）を作製した。

【0032】③　アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）のシリカゲルへの担持

上記②で得たアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）１．２５ｇを酢酸エチル１２．５mlに溶解させ、このポリマードープの全量を均一に①のシリカゲル１１．２５ｇに塗布した。塗布後、酢酸エチルを５０℃、１２０Torrの条件で１５分間の減圧乾燥を行うことで、目的のアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持型充填剤を得た。

【0033】④　作製充填剤からのＨＰＬＣ用充填カラム作製

③で作製したアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ２５cm、内径０．４６cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

【0034】実施例4

ＴＳ係数＝０．６９６のアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持光学異性体分離用充填剤の作製方法

①　シリカゲル表面処理

実施例１の①と同じく、多孔質シリカゲル（粒径２０μm、平均細孔径１３００Å）にカルバモイル表面処理を施した。

【0035】②　アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）の合成

実施例１の②と同様の手法により、アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）を作製した。

【0036】③　アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）のシリカゲルへの担持

上記②で得たアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）５０．２５ｇを酢酸エチル４３７．２mlに溶解させ、このポリマードープの１／３量を均一に①のシリカゲル１１７．２５ｇに塗布した。塗布後、酢酸エチルを５０℃、１２０Torrの条件で１５分間の減圧乾燥を行った。引続きポリマードープの１／３量を同様に塗布後、酢酸エチルを同条件にて１５分間の減圧乾燥し、残り１／３量を均一塗布後、酢酸エチルを２５分間の減圧乾燥により減圧留去を行うことで、目的のアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持型充填剤を得た。

【0037】④　作製充填剤からのＨＰＬＣ用充填カラム作製

③で作製したアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ２５cm、内径０．４６cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

【0038】実施例5

ＴＳ係数＝０．３７９のアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持光学異性体分離用充填剤の作製方法

①　シリカゲル表面処理

実施例１の①と同じく、多孔質シリカゲル（粒径２０μm、平均細孔径１３００Å）にカルバモイル表面処理を施した。

【0039】②　アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）の合成

実施例１の②と同様の手法により、アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）を作製した。

【0040】③　アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）のシリカゲルへの担持

上記②で得たアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）２７．０ｇを酢酸エチル２７０mlに溶解させ、このポリマードープの１／２量を均一に①のシリカゲル１５３．０ｇに塗布した。塗布後、酢酸エチルを５０℃、１２０Torrの条件で１５分間の減圧乾燥を行った。引続きポリマードープの１／２量を同様に塗布後、酢酸エチルを同条件にて１５分間の減圧乾燥、目的のアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持型充填剤を得た。

【0041】④　作製充填剤からのＨＰＬＣ用充填カラム作製

③で作製したアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ２５cm、内径０．４６cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

【0042】比較例1

ＴＳ係数＝１．０５０のアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持光学異性体分離用充填剤の作製方法

①　シリカゲル表面処理

実施例１の①と同じく、多孔質シリカゲル（粒径２０μm、平均細孔径１３００Å）にカルバモイル表面処理を施した。

【0043】②　アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）の合成

実施例１の②と同様の手法により、アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）を作製した。

【0044】③　アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）のシリカゲルへの担持

上記②で得たアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）２．５ｇを酢酸エチル１８．７５mlに溶解させ、このポリマードープの１／４量を均一に①のシリカゲル３．７５ｇに塗布した。塗布後、酢酸エチルを５０℃、１２０Torrの条件で１５分間の減圧乾燥を行った。引続きポリマードープの１／４量を同様に塗布後、酢酸エチルを同条件にて３０分間の減圧乾燥を行った。さらに、ポリマードープの１／４量を同様に塗布後、酢酸エチルを同条件にて３０分間の減圧乾燥を行い、残り１／４量のポリマードープを同様に塗布後、酢酸エチルを同条件にて６０分間の減圧乾燥を行うことで、目的のアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持型充填剤を得た。

【0045】④　作製充填剤からのＨＰＬＣ用充填カラム作製

③で作製したアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ２５cm、内径０．４６cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

【0046】比較例2

ＴＳ係数＝０．２４０のアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持光学異性体分離用充填剤の作製方法

①　シリカゲル表面処理

実施例１の①と同じく、多孔質シリカゲル（粒径２０μm、平均細孔径１３００Å）にカルバモイル表面処理を施した。

【0047】②　アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）の合成

実施例１の②と同様の手法により、アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）を作製した。

【0048】③　アミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）のシリカゲルへの担持

上記②で得たアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）１２５．０ｇを酢酸エチル１２５０mlに溶解させ、このポリマードープの全量を均一に①のシリカゲル２３７５．０ｇに塗布した。塗布後、酢酸エチルを５０℃、１２０Torrの条件で１０．５分間の減圧乾燥を行うことで、目的のアミロース トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）担持型充填剤を得た。

【0049】④　作製充填剤からのＨＰＬＣ用充填カラム作製

③で作製したアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）をシリカゲル上に担持した分離剤を充填剤として用い、長さ２５cm、内径０．４６cmのステンレス製カラムにスラリー充填法で充填し、光学異性体用分離カラムを作製した。

【0050】応用例

実施例１～５及び比較例１～２において作製したアミロース　トリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）をシリカゲル上に担持した充填剤を充填したＨＰＬＣ用光学異性体分離用カラムを用い、下記条件の液体クロマトグラフィー法によりＴＳの溶出時間［t(TS)(min.)］を測定し、下記の計算式によってＴＳ係数を算出した。結果を表１に示す。

<液体クロマトグラフィーの分析条件>

移動相：ｎ－ヘキサン／２－プロパノール＝９／１（v／v）

流速：１．０ml／min.

温度：２５℃

検出：２１０nm

打込みＴＳ濃度：５．０mg／ml（移動相）

ＴＳ打込み量：１０μL

<ＴＳ係数計算式>

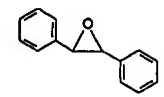
Vc：0.23×0.23×3.14×25＝4.15cm^3、FR：1.0ml／min.、t(blank)：0.16min.

ＴＳ係数＝｛4.15－[t(TS)－0.16]×1.0｝／[t(TS)－0.16]×1.0

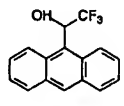
さらに実施例１～５及び比較例１～２において作製したＨＰＬＣ用光学異性体分離用カラムを用い、ラセミ体である下記式で表される化合物１～４の光学分割を行い、下記式により、各光学活性体の分離の程度を示す指標である分離度Ｒｓ値を算出した。その結果も表１に示す。

【0051】

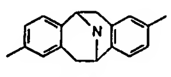
【化1】



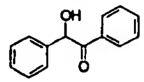
化合物１



化合物２



化合物３



化合物４

【００５２】Ｒｓ＝２（t1−t2）／（W1＋W2）
（ここで、t1，t2は各光学異性体の溶出時間、W1，W2は光学異性体ピークのピーク幅を示す。）

【００５３】

【表１】

HPLC用カラム		t(TS) (min)	TS係数	分離度 (Rs) 化合物1	化合物2	化合物3	化合物4
実施例	1	2.67	0.527	4.91	1.55	1.98	1.77
	2	2.15	0.926	3.40	1.05	1.44	1.12
	3	3.14	0.286	3.55	1.03	1.21	1.50
	4	2.42	0.696	3.95	1.21	1.63	1.34
	5	2.94	0.379	5.49	1.38	1.90	1.91
比較例	1	2.03	1.050	2.17	0.63	1.01	0.68
	2	3.25	0.240	2.28	0.59	0.65	1.21

【００５４】また充填剤のＴＳ係数と化合物１のＲｓ値との関係を図１に、充填剤のＴＳ係数と化合物２〜４のＲｓ値との関係を図２に示した。

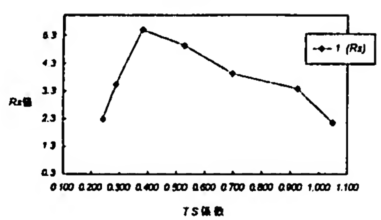
【００５５】以上の結果から、ＴＳ係数が０．２５から１．０の範囲にある充填剤は、光学異性体の分離性能が良好であることがわかる。

【図面の簡単な説明】

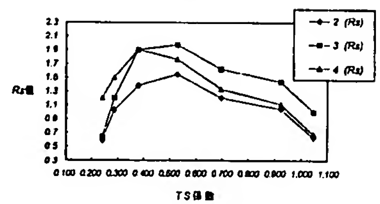
【図１】　充填剤のＴＳ係数と化合物１のＲｓ値との関係を示す図である。

【図２】　充填剤のＴＳ係数と化合物２〜４のＲｓ値との関係を示す図である。

【図１】



【図２】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷		識別記号	FI		テーマコード(参考)
ＣＯ７Ｃ	29/76		ＣＯ７Ｃ	29/76	
	33/40			33/40	
	45/79			45/79	
	49/83			49/83	Ｚ